Dott. Prof. ERMANNO GIGLIO-TOS
Direttore della Stazione biologica della R. Università di Cagliari

La lunghezza e la struttura del fuso cariocinetico nell'anfimissi e nella partenogenesi

Estratto dalla « *Rivista di Biologia* »
Vol. VII, Fasc. VI, novembre-dicembre 1925

MILANO
ISTITUTO EDITORIALE SCIENTIFICO
EDITORE

LA LUNGHEZZA E LA STRUTTURA DEL FUSO CARIOCINETICO NELL'ANFIMISSI E NELLA PARTENOGENESI

Nella I parte dei miei «Entwicklungsmechanische Studien» (1) io ho potuto dimostrare come la mia interpretazione della cariocinesi, non solo ci dava esatta e precisa ragione del modo di svolgersi della divisione della cellula e di tutti i fenomeni che l'accompagnano, ma ci porgeva pure una spiegazione naturale e razionale di tutti quei fatti, ritenuti finora misteriosi, che si manifestano durante la fecondazione, dalla prima penetrazione dello spermatozoo nell'uovo fino alla formazione del primo solco di divisione.

Le cose si possono riepilogare nel seguente modo:

1°) Lo spermatozoo, penetrando nell'uovo, porta con sè tutto il suo bioplasma, cioè non solo la cromatina ma anche il citoplasma, ossia tutta la parte veramente vivente che lo costituisce, fra cui naturalmente anche lo spermatocentro.

2°) Il bioplasma dello spermatozoo, trovandosi nell'uovo e quindi in presenza di sostanze che servono alla sua nutrizione, inizia la sua assimilazione che lo porta allo sdoppiamento di tutte le particelle (biomori) che lo formano fenomeno, che deve precedere ogni cariocinesi.

3°) Dopo lo sdoppiamento dei biomori il sistema bioplasmatico dello spermatozoo diventa duplice da semplice che era prima. L'orientamento di tutti i biomori che lo formano porterà dunque alla formazione di due sistemi semplici indipendenti nei quali i biomori assumeranno ognuno la posizione che nel sistema devono occupare rispetto agli altri.

4°) Questo graduale orientamento naturalmente si inizierà in quei biomori che devono nel sistema occupare la posizione centrale e si estenderà a poco a poco a tutti gli altri che devono assumere una posizione più periferica.

Così esso porterà alla formazione ed al progressivo accrescimento di due sferette che andranno a mano a mano aumentando di volume e quindi di raggio e che rimarranno, durante questo tempo, sempre tangenti l'una all'altra. Il fenomeno è perfettamente analogo alla formazione ed al graduale accrescimento di due goccioline nelle quali il punto centrale sia occupato dagli spermatocentri (derivati dallo spermatocentro sdoppiato) intorno ai quali dispongano gradualmente gli altri biomori che formano le centrosfere e gli aster. Per tal modo si ha la formaziome dell'amphiaster.

Quali saranno le conseguenze dirette inevitabili di questa formazione ?

Sono evidenti. Quanto più crescono le sferette per la sopraapposizione dei biomori più esterni, tanto maggiore diventerà il loro raggio. I due spermatocentri, derivati dallo sdoppiamento del primitivo unico speımatocentro e quindi dapprima contigui, saranno costretti ad allontanarsi fra di loro per l'interposizione dei biomori formanti le centrosfere e tale allontanamento proseguirà di pari passo col crescere dell'amphiaster.

Così di fatto avviene.

Osservazioni accurate in condizioni opportune mi hanno rivelato, (ed è cosa che tutti possono constatare) che la migrazione di tutto il sistema (amphiaster e pronucleo maschile) verso il centro dell'uovo subisce a questo punto una pausa.

In questo istante di pausa la distanza degli spermatocentri fra di loro (lunghezza del fuso) deve essere dunque il doppio della distanza dei medesimi della periferia dell'uovo.

Naturalmente, se le cose si fermassero a questo punto, se cioè il bioplasma femminile dell'uovo non prendesse anch'esso parte alla formazione dell'amphiaster, il fuso non potrebbe allungarsi ulteriormente e quindi conserverebbe la posizione assunta col solo concorso del bioplasma maschile.

Ma qui, nelle condizioni normali, interviene il bioplasma femminile il quale entra pur esso a far parte dell'amphiaster.

5°) I biomori del bioplasma femminile (citoplasma vero e pronucleo) alla lor volta entrando in assimilazione (forse in seguito a nuove condizioni chimiche create dalla previa assimilaziome del blioplasma maschile) si sdoppiano e subito dopo incomincia il loro orientamento con i biomori maschili già orientati.

Di qui due fenomeni che ne sono la conseguenza diretta: 1°) un

richiamo dei biomori femminili e quindi del pronucleo femminile verso il maschile) ; 2°) l'accrescimento dell'amphiaster maschile per l'aggiunta dei biomori femminili a quelli maschili già orientati.

6°) L'amphiaster in seguito alla graduale aggiunta dei biomori femminili riprende il suo accrescimento rimasto sospeso per un istante e quindi riprende pure per le ragioni dette il suo graduale allontanarsi dalla periferia dell'uovo verso il centro. La migrazione verso il centro, rimasta un istante sospesa, ricomincia allora ma questa volta non più del solo amphiaster e del pronuclo maschile, ma di tutto il sistema; amphiaster maschile femminile, e pronucleo maschile e femminile.

Il sistema è allora integro: esso risulta formato dal bioplasma maschile e dal bioplasma femminile e non ha che da proseguire l'orientamento perchè giunga al suo compimento ossia alla divisione dell'uovo nei suoi primi blastomeri.

Ne risulta dunque che l'amphiaster viene così formato da due parti di cui una interna o midollare, di origine maschile e l'altra esterna o corticale di origine femminile.

Quale sarà il rapporto nel volume di queste parti?

Noi non abbiamo dati per poterlo determinare ma non mi pare che vi sieno ragioni per non supporre che come la quantità di cromatina, portata dallo spermatozoo è uguale a quella portata dall'uovo, non abbia anche da essere la quantità di citoplasma portato dallo spermatozoo uguale a quella portata dall'uovo.

È ben vero che le idee prevalenti su tale questione non sono proprio queste e si suole da taluni escludere addirittura che lo spermatozoo porti nell'uovo neanche la minima traccia di citoplasma e che questo sia tutto fornito dall'uovo. Ma mi pare che in queste deduzioni si sia fuori della giusta via e in equivoco e che ad ogni modo si asserisca assai di più di quanto i fatti e le osservazioni ci permettano di dedurre.

Anzitutto, per quanto riguarda lo spermatozoo, si sa ormai che non la testa sola penetra nell'uovo ma anche il pezzo intermedio con lo spermatocentro e con i mitocondri. E d'altra parte chi può asserire con sicurezza che nella testa stessa dello spermatozoo non sia contenuto del citoplasma?

Certo si può in molti spermatozoi constatare che la cromatina è localizzata alla parte periferica della testa e quindi nell'interno di essa qualche cosa d'altro ci sarà. E perchè non potrà essere

questo qualche cosa il citoplasma stesso o parte di esso all'infuori dei mitocondri ?

Quanto all'uovo è pure un errore il credere che sia il solo apportatore della parte citoplasmatica e questo errore dipende senza dubbio da una irrazione concezionale della sua struttura.

Si suole difatto indicare col nome di citoplasma il contenuto dell'uovo all'infuori del pronucleo.

Ma è cosa elementare e nota che nell'uovo si accumula il deutoplasma che non può essere considerato certo come sostanza vivente, ma solo come sostanza bruta di riserva che servirà di nutrimento al bioplasma. Non può dunque il deutoplasma venir considerato come parte del citoplasma.

Pertanto, se nell'uovo si fa astrazione dei deutoplasma, la parte sua veramente vivente si riduce ad essere formata dal nucleo e da quel po' di vero citoplasma che circonda il nucleo. Ed allora è facile arguire che il volume di questo citoplasma è minimo in confronto col volume totale dell'uovo e non superiore certo al volume di citoplasma dello spermatozoo.

Dato dunque e concesso che i biomori maschili e femminili che formano l'amphiaster sieno in un numero uguali e questi ultimi in una delle sfere dell'amphiaster ne rappresentino la parte corticale, io scrivevo in un mio lavoro: (2)

Ora siccome questi strati (il midollare e il corticale) sono fra loro uguali di volume, ma formano una sfera sola, se noi ci riportiamo ai rapporti che corrono fra i volumi ed i raggi delle sfere, che cioè i volumi delle sfere stanno fra di loro, non come i raggi, ma come i cubi dei raggi, ne seguirà di necessità che *il raggio della sfera interna o midollare di origine maschile sarà uguale ai* $^{4}/_{5}$ *del raggio di tutta l'intera sfera, mentre lo spessore della zona corticale o femminile sarà appena* $^{1}/_{5}$ *di esso.*

Questo rapporto così preciso era stato da me determinato in via semplicemente teorica e mi proponevo fin d'allora di contsollare poi con i fatti se in pratica realmente si verificasse. Il che si doveva fare provocando le formazione di fusi che non potessero essere costituiti che dei bioplasma solamente maschile o solamente femminile e quindi o provocando la partenogenesi artificiale oppure provocando la formazione dell'amphiaster pe mezzo di uno spermatozoo introdotto in un frammento di uovo privo del bioplasma femminile.

Molti casi di questo genere si conoscono già nella Biologia, ma in nessuno vi aveva potuto riscontrare esattamente i fatti che a me interessava di metter bene in evidenza. Ma nell'esaminare un accurato lavoro di Herlant sulla partenogenesi degli Anfibi la mia attenzione fu richiamata da una constatazione che esattamente e meravigliosamente coincide proprio con quanto teoricamente io ho determinato.

Herlant nel provocare la polispermia nelle uova di Rana fusca (3) descrive un uovo dispermico all'inizio della sua segmentazione. «Les figures 24 et 25, pl. IX, sont simplement les deux figures de division du même oeuf dessinées à un grossissement beaucoup plus fort. On voit encore très bien les noyaux, dont les contours sont restés bien nets; le centrosome est déjà complètement divisé, les deux asters et le fuseau achromatique bien constitués» (pag. 174).

«Ce qui attire immédiatement l'attention, c'est la similitude complète entre la figure de division du noyau amphimixique et celle du noyau purement spermatique. Ce sont deux caryocinèses normales. Il faut mentionner cependant que la figure de division du noyau amphimixique est un peu plus grande, ainsi que le montre la comparaison des figures 25 et 26 qui onte eté faites à la chambre claire; mais cette différence minime, probablement en rapport avec la masse du noyau en division, n'a aucune influence sur la suite du développement; il s'agit bien de deux mitoses d'êgale valeur» (pag. 175).

Ma in un altro valore posteriore ritorna su tale caso per richiamare ancora meglio l'attenzione e specificare più precisamente la differenza di lunghezza tra i due fusi. «Il y a entre la figure de division d'un monocaryon et celle d'un amphicaryon, évoluant en même temps et chez le même oeuf, une autre différence encore que la masse plus réduite de la chromatine chez la première. En comparant soigneusement, et dans un tout autre but, ces deux phénomènes se déroulant côte à côte chez les oeufs di – et trispermiques, j'étais arrivé à cette constatation (v. les fig. 24 et 25 pl. IX de mon travail de 1911): *la distance qui sépare l'un de l'autre les deux pôles de la mitose est régulièrement plus courte lorsqu'il s'agit de celle monocaryon. Pour l'oeuf di ou – trispermique de Rana, le rapport est environ* $^4/_5$. Ce fait ne m'avais pas autrement frappé à cette époque...» (pag. 575).

« Il y a donc lieu lieu d'admettre que, chez l'oeuf parthénogénétique de grenouille, l'axe de la première figure de division est légèrement plus court, d'un cinquième environ, que ce même axe, au même stade, chez l'oeuf fecondé » (pag. 576).

A qual causa è dovuta questa diversa lunghezza dei fusi?

Herlant mostra di credere che essa sia in relazione con la massa del nucleo: « Toutefois – egli aggiunge – il ne me parait pas douteux qu' il s'agisse bien, dans cette relation entre la masse du noyau et la longueur de l'axe mitosique, d'une loi générale de la division cellulaire ». (pag. 575) Ma devo confessare che non riesco a comprendere quale parte possa avere in questo fenomeno il nucleo, dal momento che nelle figure citate i due nuclei maschile e femminile sono accollati fra di loro ai lati dell'asse del fuso e quindi non possono influire in alcun modo sulla sua lunghezza.

Del resto, a dimostrare che la lunghezza del fuso è affatto indipendente dal nucleo ma che è invece esclusivamente dovuta alla grandezza delle sfere che formano l'amphiaster, basta nelle figure stesse dare uno sguardo o meglio ancora misurare il raggio di tali sfere. La differenza nella lunghezza di tale raggio tra quelle dell'amphicaryon e quelle del monocaryon salta subito all'occhio.

Questo sta dunque a dimostrare che la maggior lunghezza del fuso è dovuta al maggior diametro delle sfere nella figura che si riferisce all'amphicaryon e questo maggior diametro non può esser dovuto che ad una maggior quantità di sostanza che entra nella formazione delle sfere.

Ora : in quale proporzione sta questa maggior quantità di sostanza con la massa totale per provocare un maggior allungamento del fuso corrispondente, come Herlant ha constatato, ad $^1/_5$ in più della lunghezza presentata dal fuso del monocaryon ?

Precisamente nella proporzione di una metà; ossia il volume dell'aster nel monocaryon è la metà di quello dell'aster nel fuso amphicaryon.

Ciò si dimostra con il noto rapporto tra i volumi delle sfere ed i loro raggi.

Poichè i volumi delle sfere stanno fra di loro come i cubi dei raggi, ne segue che una sfera di volume metà di quello di un altra avrà un raggio che sarà circa $^4/_5$ di quello dell'altra. Perciò, se le ute sfere sono rinchiuse una nell'altra, com'è il caso presente, la sfera dinerna che presenta un volume metà della sfera intera, avrà un

raggio uguale ai $^4/_5$ di quello di tutta la sfera. Ne segue pertanto che l'altro quinto del raggio rappresenterà lo spessore della zona periferica che circonda la sfera interna.

Perciò, se due sfere tangenti fra di loro hanno, com'è naturale, i loro centri ad una distanza uguale alla somma dei loro raggi, due sfere di volume doppio nelle stesse condizioni avranno i loro centri ad una distanza che supererà la prima di $^1/_5$, perchè il raggio di queste ultime sarà di $^1/_5$ superiore a quello delle prime.

Nessuno potrà negare che questa così precisa coincidenza fra i risultati teorici da me ottenuti e previsti ed i fatti constatati da Herlant non abbia un significato profondo : 1°) perchè questi sono stati rilevati da Herlant senza che per nulla conoscesse i principî della mia interpretazione della cariocinesi ; 2°) perchè per parte mia, quando giungevo alle mie deduzioni teoriche anch'io non conoscevo il lavoro di Herlant.

Si tratta dunque di risultati ottenuti da Herlant con l'osservazione diretta dei fatti, da me con deduzioni teoriche, affatto indipendentemente l'uno dall'altro. La coincidenza così precisa, così esatta e non sospetta tra i risultati pratici e quelli teorici acquista dunque un grande valore e ci autorizza a concludere :

1°) che realmente, com'io suppongo nella interpretazione della cariocinesi, l'amphiaster è formato dalla giustapposizione di due sferette fra di loro tangenti ; senza di che non si spiegherebbe la differenza nella lunghezza dei fusi.

2°) che queste sferette nelle condizioni normali di fecondazione sono formate di sostanze maschili e di sostanze femminili e che quindi il fuso risulta formato di biomori o particelle dell'uno e dell'altro sesso ; perciò il fuso privo di sostanza femminile è più corto dell'altro ;

3°) che queste particelle o biomori di origine diversa entrano nella costituzione del fuso in proporzioni uguali, perchè la differenza nella lunghezza dei due fusi è di $^1/_5$ della lunghezza totale ;

4°) che le sfere dell'amphiaster formate dai soli biomori maschili hanno i raggi che sono i $^4/_5$ di quello dell'amphiaster formato dai biomori maschili e femminili.

LAVORI CITATI.

(1) Giglio-Tos E. – *Entwicklungsmechanische Studien*, I, Die ersten Furchungsebenen bei den Eiern der Seeigel, in : Arch. f. Entwicklungsmech, Vol. 51, 1922.

(2) Giglio-Tos E. – *Studi sulla meccanica dello sviluppo*, II, I fenomeni della fecondazione, in: Rivista di Biologia, Vol. 6, 1924.

(3) Herlant M. – *Recherches sur les oeufs di – et trispermiques de grenouille*, in: Arch. de Biologie, vol. 26, 1911.

(4) Herlant M. – *Etude sur les bases cytologiques du mécanisme de la parthénogénèse expérimentale chez les Amphibiens*, ibid., vol. 28, 1913.